

Використання макро- і мікромутацій для селекції озимої пшениці

М.М. Назаренко, кандидат біологічних наук

Проведено аналіз ефективності використання макро- та мікромутацій в практичній селекції. Визначено частоти індукції макро- та мікромутацій озимої м'якої пшениці сортів Панна, Смуглянка, Одеська 333 та Матильда. Відібрано перспективні мутанти з продуктивності та вмісту білка. Вивчено роль макро- та мікромутацій в отриманні нових перспективних ліній.

Постановка проблеми. Розробка методології й удосконалення методик індукції, вивчення й добору мутацій – одна з найбільш актуальних проблем сучасної генетики рослин, пов'язана з необхідністю введення нових генів у генофонд культурних рослин. Ця проблема набуває особливого значення для озимої пшениці, які є стратегічною культурою й має порівняно звужену зародкову плазму [1].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Більшість мутацій можна ідентифікувати візуально. Довгий час дослідження в експериментальному мутагенезі були спрямовані на вивчення мутацій з різкими відмінностями у фенотипі (макромутацій). Але багато практично цінних мутацій не проявляються або слабо проявляються у фенотипі (мікромутації) [2].

Необхідно визначити, чи треба в селекції орієнтуватися на добір макромутантів або мікромутантів, що принципово змінює схему селекційного процесу. Дані пріоритети пов'язані з вибором оптимальних доз для мутагенезу.

Зазвичай до малих мутацій відносять зміни по кількісних ознаках, але можливі і якісні зміни (строки стиглості, незначні варіації воскової поволоки, зміни білкового спектра). Основні напрями – створення ефективних методик ідентифікації мікромутацій, дослідження мікромутацій за якістю (зміни в білковому спектрі, механізмах біохімічного синтезу, вмісту та складу деяких цінних або шкідливих речовин) [1], пошук нових типів мутацій та встановлення їх генетичного контролю [4, 5], порівняння ефективності використання макро- і мікромутацій в мутаційній селекції та експериментальній генетиці рослин [1].

Особливу увагу викликає пошук мутацій за розмірами насіння, біохімічним складом генеративних органів, створення маркерних мутантів у гібридній селекції [2, 3], мутагенів із специфічним характером дії на біосинтез, зі зниженим вмістом негативних речовин [6].

Вважається, що мікромутації пов'язані з мутаціями зі зсувом рамки зчитування, макромутації – із хромосомними перебудовами [6].

Мета досліджень – виявити доцільність використання макро- чи мікромутацій в практичній селекції на продуктивність та вміст білка, виявити оптимальні дози для індукції макро- чи мікромутантів.

Матеріали і методи досліджень. Ефективність різних доз і концентрацій хімічних і фізичних мутагенів визначали аналізом мутацій у М₂–М₆ сортів озимої пшениці Панна, Смуглянка, Одеська 333 та Матильда. Виявляли зміни у фенотипі за фенологічними спостереженнями, встановлювали спадковий характер цих змін, проводили класифікацію макро- і мікрмутантів. До мікрмутантів відносили форми, які не мали різких відмінностей від вихідних форм, до макромутацій – зі зміненим фенотипом.

Мутантний матеріал отриманий у результаті впливу на сухе насіння озимої пшениці таких мутагенів: НЕС (нітрозоетилсечовина) – 0,005; 0,01; 0,025; 0,05 %; НМС (нітрозометилсечовина) – 0,001; 0,005; 0,0125; 0,025 % і опромінені гамма-променями в дозах 50, 100, 150, 200 Гр.

Досліди проводилися у 2007–2010 рр. на базі ДСВ ІФРГ НААН України (смт Глеваха, Київська обл.), лабораторії генетики МП НААН України.

Вірогідність відмінностей оцінювали за критерієм Стьюдента й результатами факторного аналізу.

Результати досліджень та їх обговорення. Для сортів Панна, Одеська 333 та Матильда характерна наявність як макро-, так і мікрмутацій, для сорту Смуглянка – зміни в продуктивності й куцистості (табл. 1).

1. Результати класифікації мутантних ліній М₄–М₅ (2007–2008 рр.)

Вихідний сорт	Тип мутанта	Кількість ліній, шт.	% від загальної кількості ліній
Смуглянка	макро	4	11
	мікро	31	89
	всього	35	100
Матильда	макро	2	67
	мікро	1	33
	всього	3	100
Панна	макро	3	17
	мікро	15	83
	всього	18	100
Одеська 333	макро	6	25
	мікро	18	75
	всього	24	100

Проводили оцінку ліній старших поколінь М₄–М₆. Основними показниками порівняння ефективності використання макро- і мікрмутацій є, по-перше, кількість зразків, виділених для подальшого випробування; по-друге – середні за продуктивністю і якістю макро- і мікрмутантів; по-третє – наявність виняткових за продуктивністю і якістю зразків. Під час добору з попереднього в попереднє сортовипробування у Смуглянки залишилися винятково мікрмутанти, а в сорту Одеська 333 домінують макромутанти.

2. Врожайність ліній попереднього випробування за 2007 – 2009 рр.

Польовий № 2008	Походження	Урожайність, ц/га		Вміст білка, %
		середня	до вихідного сорту	
1430	Смуглянка ст.	89,3	-	13,0
	Смуглянка, НЕС 0,025 %	89,2	-0,1	15,0*
1436	Смуглянка, НЕС 0,01%	98,9*	+9,6	12,6
1451	Смуглянка 100 Гр	98,5*	+9,2	13,4
1452	Смуглянка 100 Гр	98,7*	+9,4	13,3
	Одеська 333 ст.	83,9	-	13,1
1470	Одеська 333 НЕС 0,005 %	92,6*	+8,7	14,4*
1486	Одеська 333 НЕС 0,005 %	92,1*	+8,1	13,7
НСР _{0,05}			4,3	0,9

Тут і далі: * за вірогідної різниці зі стандартом при $t_{0,05}$.

Суттєве поліпшення за вмістом білка показали як мікро-, так і макромутації, і лише один зразок із вмістом білка вище 14 % є макромутантом, переважна більшість – мікромутації.

3. Результати структурного аналізу деяких продуктивних мутантних ліній озимої пшениці, 2008–2010 рр.

№ зразка	Висота рослин, см	Кількість			Маса, г	
		стебел	продуктивних стебел.	зерен у колосі	зерна з колоса	тисячі зерен
1422 ст.	86,8±2,9	4,6±1,0	3,4±0,6	30,1±5,7	1,4±0,3	49,8±0,0
1430	89,1±3,9	3,8±0,7*	3,3±0,4	31,8±4,2	1,2±0,3	44,3±0,2*
1436	80,9±4,7*	4,9±1,2	3,8±0,6	30,7±3,0	1,4±0,2	46,0±0,1*
1451	88,8±2,3	4,6±1,0	4,0±0,8	35,9±5,5*	1,7±0,2	49,8±0,1
1452	83,5±2,5*	4,6±0,8	4,1±0,5*	36,7±4,5*	1,8±0,1*	52,8±0,1*
1466 ст.	94,1±4,0	3,7±0,7	3,7±0,7	31,5±4,5	1,5±0,2	41,3±0,1
1470	98,5±3,4*	4,1±0,8	3,8±0,6	30,8±7,1	1,4±0,3	44,5±0,1*
1486	97,5±4,7*	4,2±0,8*	3,5±0,7	35,3±5,7*	1,4±0,3	47,0±0,3*

У всіх випадках продуктивні мутації індуковані низькими й оптимальними дозами (гамма-промені 50 і 100 Гр, НЕС 0,005 і 0,01 %, НМС 0,005 і 0,0125 %). Використання високих доз радіації (200 Гр) не було ефективним у створенні продуктивних ліній.

Єдина високоякісна лінія Смуглянки була індукована НЕС 0,025 %. Для Одеської 333 обидві продуктивні лінії були індуковані НЕС у дозі 0,005 %. За ефективністю для всіх вихідних форм мутагени можна розташувати так: НЕС > гамма-промені > НМС. НЕС був однаково ефективний в індукції продуктивних ліній як і для Смуглянки, і для Одеської 333 (табл. 3).

При доборі за продуктивністю і якістю мутантних ліній в Одеської 333 у попереднім випробуванні залишилися дві форми. Одна з них, 1470, крім високої продуктивності, показує і високу якість (більше 14 % вмісту білка).

Проведено аналіз міжлінійної й внутрілінійної мінливості 25 перспективних ліній М₄ озимої м'якої пшениці трьох груп мутантів сортів Смуглянка, Матильда й Одеська 333 по білкових молекулярних маркерах з метою виявлення кращих генотипів.

У результаті встановили, що цінність являють зразки 5714, 5745 і 5749, але їх використання можливе лише як компонентів в селекційних схрещуваннях.

Висновки

Продуктивні й з високим вмістом білка мутантні лінії індуковані винятково низькими й оптимальними дозами мутагенів. Мікрмутанти набагато більше перспективні в селекції на якість по такій ознаці, як вміст білка. Лінії з винятковою продуктивністю, як правило, є мікрмутантами. Добір мікрмутацій насамперед є ефективним для кращих вихідних форм, максимально збалансованих за своїми практично цінними ознаками (Панна, Смуглянка). У разі використання як вихідні форми сортів або ліній з однієї або декількома незадовільними параметрами такий добір малоефективний; кращий результат дають макромутанти (Одеська 333, Матильда). Для індукції мікрмутацій варто використовувати низькі дози мутагенів. З метою індукції макромутацій необхідно використовувати високі та помірно високі дози мутагенів.

Бібліографія

1. Моргун В.В. Мутационная селекция пшеницы / В.В. Моргун, В.Ф. Логвиненко. – К. : Наук. думка, 1995. – 627 с.
2. Baruah J. Performanse comparison of macromutation selections of green gram in advanced mutation generation for Yield and physiological attributes / J. Baruah, P. Talukdar // Indian J. of Genetics and Plant Breeding. – 1994. – Vol. 53, № 4. – P. 445–447.
3. Bhagwat S.G. A radiation-induced mutant in wheat / S.G. Bhagwat // Annual Wheat Newsletter. – 2005. – № 51. – P. 49.
4. Chen F. A new purandoline b mutation present in Chinese cultivar Jingdong 11 / F. Chen, Z. He, X. Xia // J. of Cereal Sci. – 2005. – Vol. 42. – P. 267–269.

5. *Das M.L.* Gamma-ray induced variability in quantitative characters of sunflower and their interrelationship / *M.L. Das, M.K. Uddin* // *Bangladesh J. of Botany.* – 2000. – Vol. 29, № 3. – P. 287–295.

6. *Fu H.* A revisit of mutation induction by gamma rays in rice (*Oryza sativa* L.): implications of microsatellite markers for quality control / *H. Fu, A. Li* // *Mol. Breed.* – 2008. – 22. – P. 201–206.